

From the Research Institute for Farm Animal Biology (FBN)
and Professorship of Animal Breeding and Genetics
Faculty of Agricultural, Civil and Environmental Engineering

Summary of the cumulative dissertation

**Epigenetics, molecular pathways, and data integration to infer biological
networks related to phosphorus utilisation in two contrasting high-
yielding laying hen strains**

to obtain the academic degree Doctor of Agricultural Sciences (Dr. agr.)

at the Faculty of Agricultural, Civil and Environmental Engineering
at the University of Rostock

submitted by M.Sc. Yosef Amsalu Abitew
from Gondar, Ethiopia

Defence on 17 July 2026

Phosphorus (P) is a critical constraint in sustainable poultry production. In plant-based feeds, much of the P exists as phytic acid, which is poorly available to poultry due to their low endogenous phytase activity. This limitation necessitates supplementation with mineral P or exogenous phytases. However, the common industry practice of over-supplementation as a safety margin triggers economic losses and environmental pollution from excessive P excretion, highlighting the need for optimized P levels in laying hen diets. Different laying hen strains, such as Lohmann Selected Leghorn-Classic (LSL) and Lohmann Brown-Classic (LB), display variations in immune traits, mineral utilization (including P), body weight, and other phenotypic characteristics while having similar production capacities, making them an ideal model to study the effects of genetic divergence, maturation period, and, low P diet effects on P utilisation. The central hypothesis of this thesis hence was that the host genetics, epigenetic landscapes, and gut microbiota interact to determine P utilisation. Studies 1 and 2 conducted transcriptomic and accessible chromatin profiling on the jejunum of two commercial layer hen strains, LB and LSL. Both studies explored the effects of hen strain (LB vs. LSL), maturation period (19 vs. 24 wks.), and complete removal of dietary P supplementation (P- vs. P+) on gene expression and chromatin accessibility in the jejunal mucosa of laying hens. Building on these molecular pathways and signals, study 3 used an integrated approach to first map *cis*- and *trans*-eQTLs for the same low-P responsive miRNAs and mRNAs in these two laying hen strains and, second, to test for associations between these genetically regulated transcripts and the gut microbiota. Study 3 utilised a large cohort of samples to perform comprehensive expression quantitative trait locus (eQTL) analyses in the jejunum mucosa. Experimental birds in study 3 were subjected to a diet lacking mineral P supplementation (P-) to elicit the adaptive mechanisms observed in studies 1 and 2. The strains exhibited divergent transcriptional responses. LB showed a distinct adaptive metabolic shift compared to LSL. The age also had a robust effect: the 19-week-old LB hens showed a stronger response to dietary mineral P removal, with transcripts affiliated with increased adaptation of the metabolism and decreased immune pathway activation. Accessible chromatin profiling revealed that the genomic landscape is primed by sexual maturation period and the host's genetic background. The two strains employ divergent genetic and epigenetic strategies to regulate P homeostasis. LB relies on local *cis*-eQTLs for key mineral transporters (e.g., *CALB1* and *SLC34A2*). Conversely, LSL relies on complex and systemic *trans*-eQTL networks. *CALB1* was identified as a central marker in all studies. Conversely, our findings suggest that current uniform feeding guidelines could be refined to better account for these strain- and age-dependent molecular mechanisms. The results provide the first integrated regulatory blueprint for P-utilisation in laying hens. This study elucidates changes in gut biological functions driven by genetic background, developmental stage, and diet. By characterizing these mechanisms, the work identifies concrete markers and genetic targets that can support breeding programs and precision nutrition for a more sustainable poultry industry.

Phosphor (P) ist ein entscheidender Engpass in der nachhaltigen Geflügelproduktion. In pflanzlichen Futtermitteln liegt ein Großteil des P als Phytinsäure vor, die für Geflügel aufgrund seiner geringen endogenen Phytaseaktivität nur schlecht verfügbar ist. Diese Einschränkung erfordert eine Ergänzung mit mineralischem P oder exogenen Phytasen. Die in der Branche übliche Praxis der Überdosierung als Sicherheitsmarge führt jedoch zu wirtschaftlichen Verlusten und Umweltverschmutzung durch übermäßige P-Ausscheidung, was die Notwendigkeit einer Optimierung des P-Gehalts in der Ernährung von Legehennen deutlich macht. Verschiedene Legehennenrassen, wie Lohmann Selected Leghorn-Classic (LSL) und Lohmann Brown-Classic (LB), weisen Unterschiede in Bezug auf Immunmerkmale, Mineralstoffverwertung (einschließlich P), Körpergewicht und andere phänotypische Merkmale auf, während sie ähnliche Produktionskapazitäten haben. Damit sind sie ein ideales Modell, um die Auswirkungen genetischer Unterschiede, der Reifezeit und einer P-armen Ernährung auf die P-Verwertung zu untersuchen. Die zentrale Hypothese dieser Arbeit war daher, dass die Genetik des Wirts, die epigenetischen Landschaften und die Darmmikrobiota zusammenwirken, um die P-Verwertung zu bestimmen. In den Studien 1 und 2 wurden Transkriptom- und zugängliche Chromatin-Profile des Jejunums von zwei kommerziellen Legehennenstämmen, LB und LSL, erstellt. Beide Studien untersuchten die Auswirkungen des Hühnerstamms (LB vs. LSL), der Reifungsphase (19 vs. 24 Wochen) und der vollständigen Entfernung der P-Ergänzung aus der Nahrung (P- vs. P+) auf die Genexpression und die Chromatinzugänglichkeit in der Jejunumschleimhaut von Legehennen. Aufbauend auf diesen molekularen Signalwegen und Signalen wurde in Studie 3 ein integrierter Ansatz verwendet, um zunächst cis- und trans-eQTLs für dieselben P-sensitiven miRNAs und mRNAs in diesen beiden Legehennenrassen zu kartieren und anschließend die Zusammenhänge zwischen diesen genetisch regulierten Transkripten und der Darmmikrobiota zu untersuchen. In Studie 3 wurde eine große Kohorte von Proben verwendet, um umfassende Analysen des quantitativen Expressionsloci (eQTL) in der Jejunumschleimhaut durchzuführen. Die Versuchstiere in Studie 3 erhielten eine Ernährung ohne mineralische P-Supplementierung (P-), um die in den Studien 1 und 2 beobachteten Anpassungsmechanismen hervorzurufen. Die Stämme zeigten unterschiedliche Transkriptionsreaktionen. LB zeigte im Vergleich zu LSL eine deutliche adaptive Stoffwechselveränderung. Auch das Alter hatte einen starken Einfluss: Die 19 Wochen alten LB-Hühner zeigten eine stärkere Reaktion auf die Entfernung von Mineral-P aus der Nahrung, mit Transkripten, die mit einer erhöhten Anpassung des Stoffwechsels und einer verringerten Aktivierung der Immunwege verbunden waren. Die Analyse des zugänglichen Chromatins ergab, dass die genomische Landschaft durch die Geschlechtsreife und den genetischen Hintergrund des Wirts geprägt ist. Die beiden Stämme verwenden unterschiedliche genetische und epigenetische Strategien zur Regulierung der P-Homöostase. LB stützt sich auf lokale cis-eQTLs für wichtige Mineralstofftransporter (z. B. *CALB1* und *SLC34A2*). Umgekehrt stützt sich LSL

auf komplexe und systemische *trans*-eQTL-Netzwerke. *CALB1* wurde in allen Studien als zentraler Marker identifiziert. Umgekehrt deuten unsere Ergebnisse darauf hin, dass die aktuellen einheitlichen Fütterungsrichtlinien verfeinert werden könnten, um diesen stamms- und altersabhängigen molekularen Mechanismen besser Rechnung zu tragen. Die Ergebnisse liefern den ersten integrierten Regulierungsplan für die P-Verwertung bei Legehennen. Diese Studie beleuchtet Veränderungen der biologischen Funktionen des Darms, die durch den genetischen Hintergrund, das Entwicklungsstadium und die Ernährung beeinflusst werden. Durch die Charakterisierung dieser Mechanismen identifiziert die Arbeit konkrete Marker und genetische Ziele, die Zuchtprogramme und Präzisionsernährung für eine nachhaltigere Geflügelindustrie unterstützen können.